吡咯喹啉醌二钠对肉仔鸡的生物安全性评价[1]

孙光明[1]　董雪玉[2]　廖秀冬[2]　张丽阳[2]　郭艳丽[1*]　吕　林[2*]　罗绪刚[2]

（1．甘肃农业大学动物科学技术学院，兰州 730070；2．中国农业科学院北京畜牧兽医研究所矿物元素营养研究室，北京 100193）

摘　要：本试验旨在研究饲粮中添加不同水平吡咯喹啉醌二钠（$PQQ.Na_2$）对爱拔益加（AA）肉仔鸡生长性能、血液生理和血浆生化指标、器官发育和组织学结构的影响，从而评价 $PQQ.Na_2$ 对肉仔鸡的生物安全性。试验采用单因子完全随机设计，选用 240 只 1 日龄 AA 肉仔鸡，随机分为 4 个组，每个组 6 个重复，每个重复 10 只鸡（公、母各 5 只）。各组分别饲喂 $PQQ.Na_2$ 添加水平为 0、0.3、1.5 和 3.0 mg/kg 的试验饲粮。试验期为 49 d。结果表明：饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对 21 和 49 日龄肉仔鸡生长性能、血液生理和血浆生化指标及 49 日龄脏器指数均无显著影响（$P>0.05$），且并未引起主要器官的组织学结构变化。因此，肉仔鸡玉米-豆粕型饲粮中 $PQQ.Na_2$ 的最高有效添加水平为 0.3 mg/kg 时，具有 10 倍的安全系数，对肉仔鸡饲喂是安全的。

关键词：吡咯喹啉醌二钠；生物安全性评价；肉仔鸡

中图分类号：S831.5

吡咯喹啉醌（pyrroloquinoline quinone，PQQ）是 20 世纪 60 年代人类继烟酰胺[烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP)]和核黄素[黄素腺嘌呤二核苷酸（FAD）、黄素单核苷酸(FMN)]后发现的又一种氧化还原酶的辅酶[1]，PQQ 广泛存在于动植物体内，但动物自身不能合成，主要依靠肠道微生物合成和外源摄入获取，PQQ 被动物摄入后，在小肠被吸收，经肾脏排出。外源 PQQ 对维持动物机体正常生理功能至关重要。研究发现，PQQ

收稿日期：2017-12-29

基金项目：农产品质量安全监管（饲料质量安全监管）；国家现代农业产业技术体系岗位专家专项经费（CARS-41）；中国农业科学院科技创新工程专项经费（ASTIP-IAS08）

作者简介：孙光明（1992—），男，甘肃庆阳人，硕士研究生，从事动物营养与饲料科学研究。E-mail: 772156504@qq.com

*通信作者：郭艳丽，教授，博士生导师，E-mail：guoyl@gsau.edu.cn；吕　林，副研究员，硕士生导师，E-mail：lulin1225@163.com

具有促进机体生长和提高细菌对毒性及辐射的耐受性[2-3]、抗氧化应激[4]、防治肝损伤[5]、调节脂质代谢[6]等功能。目前 PQQ 已被归入 B 族维生素，是机体必需的一种营养因子，在生产和应用中的主要形式是吡咯喹啉醌二钠 (pyrroloquinoline quinone disodium salt，$PQQ.Na_2$) [7]。Ghirmay[8]在肉仔鸡饲粮中添加 0～0.8 mg/kg $PQQ.Na_2$ 时发现，饲粮添加 0.2 mg/kg $PQQ.Na_2$ 可以提高肉仔鸡饲料转化效率、42 日龄屠宰性能、血浆抗氧化能力并降低血浆脂质过氧化物含量；饲粮添加 0.1 mg/kg $PQQ.Na_2$ 可提高血浆溶菌酶活性。孙丽敏[9]在蛋鸡饲粮中添加 0、0.08、0.80 和 1.60 mg/kg $PQQ.Na_2$ 时发现，饲粮中添加适量 $PQQ.Na_2$（0.80 mg/kg）可提高产蛋率，增强产蛋鸡和鸡蛋抗氧化能力，有降低鸡蛋胆固醇含量的趋势。但是，目前 $PQQ.Na_2$ 的研究大多集中在改善动物生长性能和提高抗氧化能力等方面，关于 $PQQ.Na_2$ 的安全性评价主要集中在大鼠和人上[10-11]，对肉仔鸡的安全性评价尚未见报道。本研究通过测定肉仔鸡生长性能、血液生理和血浆生化指标、器官指数和组织结构变化，以评价玉米-豆粕型饲粮中 $PQQ.Na_2$ 添加水平对 1～21 日龄和 22～49 日龄肉仔鸡的影响，为确定 $PQQ.Na_2$ 在肉仔鸡饲粮中最高添加水平的安全系数提供科学依据，以确保其在肉仔鸡生产中的安全应用。

1　材料与方法

1.1　试验材料

$PQQ.Na_2$产品由上海优佰福生物科技有限公司提供，其中$PQQ.Na_2$有效含量达到99%以上。试验饲粮中添加的$PQQ.Na_2$为0.1%的预混剂产品。

1.2　试验设计

试验采用单因子完全随机设计。从北京华都肉鸡公司购买 300 只健康商品代 1 日龄爱拔益加（AA）肉仔鸡（公母各占 1/2），从中按体重和性别选取 240 只，随机分为 4 个组，每组 6 个重复（笼），每个重复 10 只鸡(公母各占 1/2)。

根据本实验室前期 $PQQ.Na_2$ 对肉仔鸡的生物学有效性评价研究结果，得到肉仔鸡玉米-

豆粕型饲粮中 $PQQ.Na_2$ 的适宜添加水平为 0.1～0.5 mg/kg，将 0.1 mg/kg 看作是肉仔鸡饲粮中 $PQQ.Na_2$ 的最低有效推荐添加水平，以及根据农业部颁布的《饲料和饲料添加剂畜禽靶动物耐受性评价试验指南（试行）》中的有关规定，共设置 4 个组，即不添加 $PQQ.Na_2$ 的对照组、$PQQ.Na_2$ 最高有效添加水平组（为最低有效推荐添加水平的 3 倍）以及分别为最高有效添加水平组 5 和 10 倍的 2 个 $PQQ.Na_2$ 高水平添加组，即 4 个组的饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平分别为 0、0.3、1.5 和 3.0 mg/kg。试验期为 49 d，分为 2 个阶段：1～21 日龄和 22～49 日龄

1.3　试验饲粮

参照 NRC（1994）[12]家禽营养需要量中肉仔鸡营养建议量配制试验鸡 1～21 日龄和 22～49 日龄的玉米-豆粕型基础饲粮，基础饲粮组成及营养水平见表 1，并按上述试验设计分别在各阶段基础饲粮中通过调整玉米淀粉的用量而配制 4 种试验饲粮。各组试验饲粮均以粉料形式喂给试验鸡只。

表 1　基础饲粮组成及营养水平(饲喂基础)

Table 1　Composition and nutrient levels of basal diets　(as-fed basis)　%

项目 Items	含量 Content	
	1～21 日龄 1 to 21 days of age	22～49 日龄 22 to 49 days of age
原料 Ingredients		
玉米 Corn	53.44	59.19
豆粕 Soybean meal	37.43	32.10
豆油 Soybean oil	4.78	5.00
磷酸氢钙 $CaHPO_4$[1)]	1.89	1.64
石粉 $CaCO_3$[1)]	1.21	1.12
食盐 NaCl[1)]	0.30	0.30
DL-蛋氨酸 *DL*-Met[1)]	0.33	0.14
微量成分 Micronutrients[2)]	0.32	0.21
玉米淀粉+$PQQ.Na_2$ Cornstarch+$PQQ.Na_2$	0.30	0.30
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels[3)]		
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.55	12.93
粗蛋白质 CP	22.08	20.43
赖氨酸 Lys	1.12	1.00
蛋氨酸 Met	0.61	0.42
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.90	0.72
钙 Ca	1.00	0.90
非植酸磷 NPP	0.45	0.35

[1)] 饲料级 Feed grade。

[2)]微量成分为每千克饲粮提供 Micronutrients provided the following per kilogram of diets：1～21 日龄 1 to 21 days of age，VA 15 000 IU， VD_3 4 500 IU，VE 24 IU，VK_3 3 mg，VB_1 3 mg，VB_2 9.6 mg，VB_6 3 mg，VB_{12} 0.018 mg，泛酸钙 pantothenic acid calcium 15 mg，烟酸 niacin 39 mg，叶酸 folic acid 1.5 mg，生物素 biotin 0.15 mg，氯化胆碱 choline chloride 700 mg，Zn (as zinc sulfate) 60 mg，Cu (as copper sulfate) 8 mg，Mn (as manganese sulfate) 110 mg，Fe (as ferrous sulfate) 40 mg，I (as potassium iodide) 0.35 mg，Se (as sodium selenite) 0.15 mg，金霉素 chlorotetracycline 50 mg；22～49 日龄 22 to 49 days of age，VA 10 000 IU，VD_3 3 000 IU，VE 16 IU，VK_3 2 mg，VB_1 2 mg，VB_2 6.4 mg，VB_6 2 mg，VB_{12} 0.012 mg，泛酸钙 pantothenic acid calcium 10mg，烟酸 niacin 26 mg，叶酸 folic acid 1 mg，生物素 biotin 0.1 mg，氯化胆碱 choline chloride 500 mg，Cu (as copper sulfate) 8 mg，Mn (as manganese sulfate) 80 mg，Fe (as ferrous sulfate) 30 mg，Zn（as zinc sulfate）40 mg，I (as potassium iodide) 0.35 mg，Se (as sodium selenite) 0.15 mg。

[3)]粗蛋白质和钙为实测值，其余营养水平为计算值。CP and Ca were measured value, while the other nutrient levels were calculated values.

1.4 饲养管理

饲养管理和常规免疫按《AA 肉仔鸡饲养管理手册》进行。鸡只自由采食和饮水。试验期每天观察记录鸡只健康状况，如有鸡只死亡，立即解剖，观察分析病理死因，并结料。分别于试验期第 21 和 49 天以重复（笼）为单元称鸡空腹体重和剩料量，计算平均日采食量（ADFI）、平均日增重（ADG）、料重比（F/G）。

1.5 样品采集与制备

于饲料配制前采集玉米、豆粕饲料原料样品，分析粗蛋白质和钙含量，使配制的饲粮中上述关键营养素含量与饲粮配方值尽可能接近，并在配制饲粮时现场采集样品，四分法缩小样品量后粉碎过 200 目筛，置于自封袋中低温干燥保存，以备分析饲粮粗蛋白质和钙含量。

分别于试验鸡的 21 和 49 日龄时，所有鸡只禁食而不禁水过夜后，次日 08:00 分别称鸡只空腹个体活重，从每个重复笼中按笼平均体重选取 2 只鸡（公母各 1 只），翅静脉采血 10～15 mL。其中，取第 1 份抗凝血测定血液常规生理指标；取第 2 份抗凝血于 3 000 r/min 离心 10 min，分离血浆并分装，于-20 ℃冻存，以备分析血浆生化指标。各重复笼 2 只鸡的全血或血浆按同等比例合并为 1 个样品进行分析。

于上述第 49 日龄鸡只采血结束后，将所有采血鸡只屠宰，摘取胸腺、法氏囊、脾脏、胰脏、心脏、肺脏、肝脏、肾脏、腺胃和肌胃，另取出十二指肠、空肠和回肠挤出其中内容物，分别称重，计算脏器指数；测量十二指肠、空肠、回肠长度，计算小肠各段长度指数；同时观察记录各个脏器的形态变化。

脏器指数(%)=（器官重量/活体体重）×100；

小肠各段长度指数(%)=（小肠各段长度/小肠总长度）×100。

各器官称重后，每个组从其中 3 个重复（笼）各取 1 只公鸡、另 3 个重复（笼）各取 1 只母鸡的部分肝脏、肾脏、心脏、肺脏和脾脏，放入装有 4%福尔马林溶液的棕色瓶中固定，以备制作切片，观测其组织结构。

1.6　样品分析

1.6.1　饲料原料和饲粮样品分析

样品经浓硝酸和高氯酸湿法消化后，在IRIS IntrepidⅡ等离子体发射光谱仪（TE，美国）上测定饲料原料和饲粮中钙含量；用比色法[13]测定磷酸氢钙中的总磷含量；饲粮中的粗蛋白质含量按凯氏定氮法[14]测定。

1.6.2　全血、血浆指标分析

采用KX-21血细胞自动分析仪（SYSMEX，日本）测定血液常规生理指标（血红蛋白含量、红细胞压积等）；采用TBA-40FR全自动生化分析仪（Toshiba，日本）测定血浆生化指标（谷草转氨酶、谷丙转氨酶、肌酸磷酸激酶、碱性磷酸酶活性及尿酸氮、总蛋白、白蛋白、血糖、总胆红素、肌酐、总胆固醇和甘油三酯含量）。

1.5.3　组织结构检查

按Deng等[15]和Ashraf等[16]报道的方法进行组织结构检查。主要步骤为：将固定的标本经水洗、透明、浸蜡、包埋等处理后，制成5 μm的切片，经苏木精-伊红（HE）染色后，在显微镜下观察肝脏、肾脏、心脏、肺脏和脾脏组织结构形态变化，并用图像采集系统采集相应组织图像。

1.7　数据统计分析

所有数据均采用 SAS 9.0[17]软件中的一般线性模型（GLM）程序进行方差分析，差异显著者，以最小显著差异（LSD）法比较各组间的差异显著性。数据以平均值表示，以 0.05 作为本研究中各项数据的差异显著性检验水平。

2　结果与分析

2.1　饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对肉仔鸡生长性能的影响

由表 2 可见，饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对 1～21 日龄、22～49 日龄和 1～49 日龄肉仔鸡 ADG、ADFI、F/G 均无显著影响（$P>0.05$）。这表明在本试验条件下，饲粮添加不同水平

$PQQ.Na_2$ 对肉仔鸡的生长性能均无不良影响。

2.2　饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对肉仔鸡血液生理指标的影响

由表 3 可见，饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对 21、49 日龄肉仔鸡血液血红蛋白含量、红细胞压积、白细胞计数和红细胞计数均无显著影响（P>0.05）。这表明在本试验条件下，饲粮添加不同水平 $PQQ.Na_2$ 对肉仔鸡的血液生理指标均无不良影响。

2.3　饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对肉仔鸡血浆生化指标的影响

由表 4 可见，饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对 21、49 日龄肉仔鸡的各项血浆生化指标均无显著影响（P>0.05）。这表明在本试验条件下，饲粮添加不同水平 $PQQ.Na_2$ 对肉仔鸡的血浆生化特性均无不良影响。

2.4　饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对 49 日龄肉仔鸡脏器指数的影响

由表 5 可见，饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对 49 日龄肉仔鸡各脏器指数均无显著影响（P>0.05），且各脏器外观未观测到任何异常变化。这表明在本试验条件下，饲粮添加不同水平 $PQQ.Na_2$ 不影响肉仔鸡内脏器官的发育。

2.5　饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对肉仔鸡主要脏器组织结构的影响

表 2　饲粮吡咯喹啉醌二钠添加水平对肉仔鸡生长性能的影响

Table 2　Effects of dietary PQQ.Na_2 supplemental level on growth performance of broilers

吡咯喹啉醌二钠添加水平 PQQ.Na_2 supplemental level/(mg/kg)	1～21 日龄 1 to 21 days of age			22～49 日龄 22 to 49 days of age			1～49 日龄 1 to 49 days of age		
	平均日增重 ADG/(g/d)	平均日采食量 ADFI/(g/d)	料重比 F/G	平均日增重 ADG/(g/d)	平均日采食量 ADFI/(g/d)	料重比 F/G	平均日增重 ADG/(g/d)	平均日采食量 ADFI/(g/d)	料重比 F/G
0	24.7	36.7	1.49	68.1	117	1.71	49.5	82.5	1.67
0.3	24.4	36.0	1.48	66.7	116	1.74	48.6	81.9	1.69
1.5	25.9	37.7	1.46	67.4	114	1.68	49.7	80.9	1.63
3.0	23.6	35.6	1.51	65.6	110	1.67	47.6	77.8	1.64
集合标准误 Pooled SEM	0.6	1.0	0.02	1.4	3.0	0.04	0.8	2.0	0.03
P 值 *P*-value	0.06	0.42	0.32	0.59	0.39	0.65	0.28	0.37	0.60

数据表示 6 个重复笼（*n*=6）的平均值，每个重复笼 10 只鸡（公母各占 1/2）。

Values represent the mean of six replicate cages (*n*=6) with 10 chicks (half male and half female) per cage.

表 3　饲粮吡咯喹啉醌二钠添加水平对肉仔鸡血液生理指标的影响

Table 3　Effects of dietary PQQ.Na_2 supplemental level on blood physiological parameters of broilers

吡咯喹啉醌二钠添加水平 PQQ.Na_2 supplemental level/(mg/kg)	1～21 日龄 1 to 21 days of age				22～49 日龄 22 to 49 days of age			
	血红蛋白 HGB/ (g/L)	红细胞压积 HCT/ (L/L)	白细胞计数 WBC/ (×10^9/L)	红细胞计数 RBC/ (×10^{12}/L)	血红蛋白 HGB/ (g/L)	红细胞压积 HCT/ (L/L)	白细胞计数 WBC/ (×10^9/L)	红细胞计数 RBC/ (×10^{12}/L)
0	70.2	0.29	89	2.11	76.5	0.29	50.9	2.41
0.3	70.2	0.29	105	2.16	80.2	0.31	62.7	2.55
1.5	71.7	0.30	111	2.27	78.7	0.30	54.0	2.50
3.0	72.2	0.30	108	2.26	79.8	0.31	52.3	2.51
集合标准误 Pooled SEM	1.9	0.01	7	0.06	3.9	0.01	3.2	0.11
P 值 *P*-value	0.84	0.26	0.15	0.15	0.91	0.81	0.07	0.82

数据表示 5 或 6 个重复笼（*n*=5 或 *n*=6）的平均值，每个重复笼 2 只鸡（公母各 1 只）。

Values represent the mean of five or six replicate cages (*n*=5 or *n*=6) with 2 chicks (one male and one female) per cage.

表 4　饲粮吡咯喹啉醌二钠添加水平对肉仔鸡血浆生化指标的影响

Table 4　Effects of dietary $PQQ.Na_2$ supplemental level on plasma biochemical parameters of broilers

日龄 Days of age	吡咯喹啉醌二钠添加水平 $PQQ.Na_2$ supplemental level/(mg/kg)	谷丙转氨酶 GPT/(U/L)	谷草转氨酶 GOT/(U/L)	总胆固醇 TC/(mmol/L)	甘油三酯 TG/(mmol/L)	总蛋白 TP/(g/L)	白蛋白 ALB/(g/L)	总胆红素 TBIL/(μmol/L)	葡萄糖 GLU/(mmol/L)	尿酸氮 UN/(mmol/L)	肌酸激酶 CK/(U/L)	肌酐 CREA/(μmol/L)	碱性磷酸酶 AKP/(U/L)
21	0	22.0	201	2.86	0.31	29.6	9.28	11.6	10.3	1.00	2500	26.4	13 321
	0.3	16.5	165	2.55	0.26	25.8	8.40	9.3	9.9	0.98	2144	26.6	11 285
	1.5	19.4	194	2.92	0.35	30.6	9.52	12.3	10.7	0.97	1959	27.8	12 704
	3.0	21.7	212	3.08	0.31	31.9	9.92	11.3	10.5	0.90	2455	28.5	11 791
	集合标准误 Pooled SEM	1.4	13	0.21	0.03	1.7	0.52	0.8	0.5	0.04	313	2.5	2 067
	P 值 *P*-value	0.10	0.09	0.35	0.25	0.11	0.24	0.09	0.66	0.30	0.61	0.93	0.90
49	0	27.8	389	2.20	0.23	30.3	9.55	10.4	11.5	0.97	6317	31.1	2 448
	0.3	27.4	399	2.36	0.26	32.2	10.02	10.2	11.7	0.85	6459	31.5	3 518
	1.5	26.0	388	2.36	0.27	30.1	9.83	11.1	11.5	0.95	5963	29.8	3 158
	3.0	25.9	398	2.42	0.23	29.9	9.64	10.0	11.4	0.92	6028	27.5	2 504
	集合标准误 Pooled SEM	2.5	39	0.08	0.03	1.0	0.16	0.8	0.3	0.06	213	1.8	469
	P 值 *P*-value	0.93	1.00	0.28	0.71	0.34	0.23	0.78	0.86	0.52	0.33	0.45	0.33

数据表示 5 或 6 个重复笼（*n*=5 或 *n*=6）的平均值，每个重复笼 2 只鸡（公母各 1 只）。

Values represent the mean of five or six replicate cages (*n*=5 or *n*=6) with 2 chicks (one male and one female) per cage.

表 5 饲粮吡咯喹啉醌二钠添加水平对 49 日龄肉仔鸡脏器指数的影响

Table 5 Effects of dietary $PQQ.Na_2$ supplemental level on organ indices of broilers at 49 days of age

项目 Items	吡咯喹啉醌二钠添加水平 $PQQ.Na_2$ supplemental level/(mg/kg)				集合标准误 Pooled SEM	*P* 值 *P*-value
	0	0.3	1.5	3.0		
胸腺指数 Thymus index	0.41	0.38	0.38	0.39	0.03	0.74
法氏囊指数 Bursa of Fabricius index	0.21	0.20	0.21	0.20	0.02	0.98
脾脏指数 Spleen index	0.13	0.16	0.15	0.14	0.01	0.63
胰脏指数 Pancreas index	0.22	0.21	0.22	0.21	0.01	0.81
心脏指数 Heart index	0.53	0.53	0.56	0.59	0.02	0.34
肺脏指数 Lung index	0.73	0.76	0.72	0.76	0.03	0.62
肝脏指数 Liver index	1.83	1.77	1.94	1.91	0.06	0.19
肾脏指数 Kidney index	0.59	0.57	0.60	0.63	0.02	0.19
腺胃指数 Glandular stomach index	0.34	0.34	0.34	0.34	0.01	0.98
肌胃指数 Gizzard index	1.52	1.53	1.46	1.48	0.05	0.76
十二指肠指数 Duodenum index	0.66	0.67	0.66	0.65	0.03	0.97
空肠指数 Jejunum index	1.13	1.06	1.10	1.09	0.05	0.84
回肠指数 Ileum index	0.92	0.94	0.92	0.89	0.04	0.84
十二指肠长度指数 Duodenum length index	22.6	23.3	24.3	23.1	0.6	0.29
空肠长度指数 Jejunum length index	39.8	37.8	38.9	38.6	0.9	0.42
回肠长度指数 Ileum length index	38.9	38.3	37.5	38.7	0.6	0.37

数据表示 5 或 6 个重复笼（n=5 或 n=6）的平均值，每个重复笼 2 只鸡（公母各 1 只）。

Values represent the mean of five or six replicate cages (n=5 or n=6) with 2 chicks (one male and one female) per cage.

由图 1 可见，各组 49 日龄肉仔鸡心脏未见组织学结构变化。各组均表现为心脏被膜光滑；心肌细胞呈短柱状，排列紧密、整齐，细胞染色均匀；心肌细胞的润盘及横纹间质无炎性细胞浸润；细胞核呈圆形或椭圆形，位于肌细胞的中央。

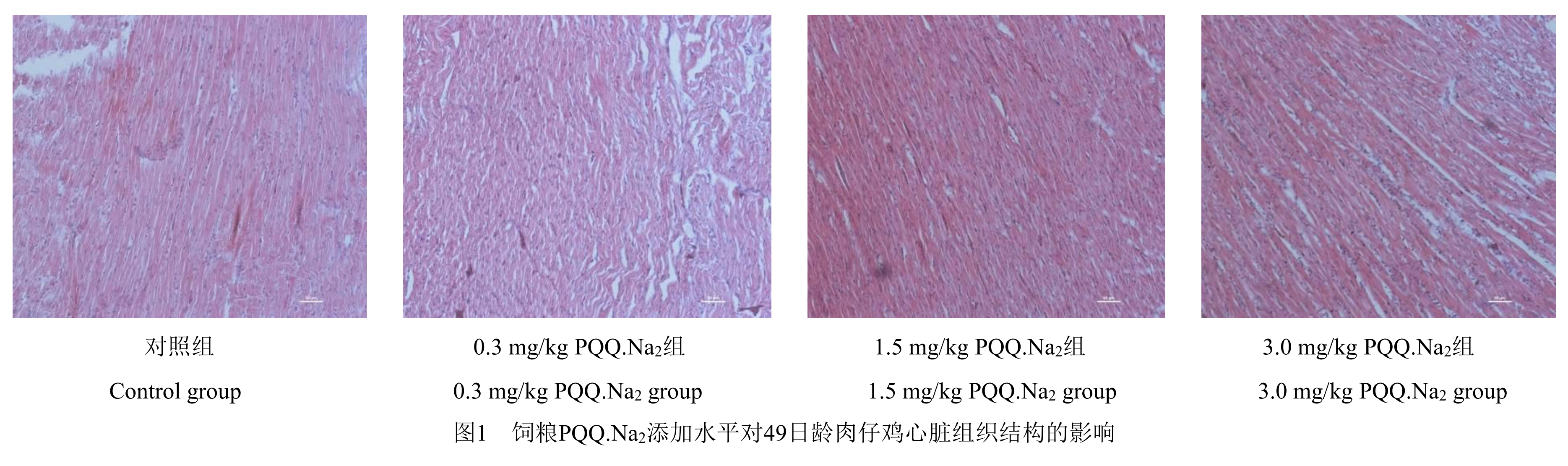
由图 2 可见，各组 49 日龄肉仔鸡肝脏未见组织学结构变化。各组均表现为肝小叶呈多角棱柱体，结构规则；肝细胞以中央静脉为中心呈放射状排列，界限清晰，呈均匀的网状结构；肝索和肝窦结构完整清晰。

由图 3 可见，各组 49 日龄肉仔鸡脾脏未见组织学结构变化。各组均表现为脾脏结构清晰完整，脾小结数量和直径未见变化；中央动脉直径和周围淋巴鞘厚度未见差异。

由图 4 可见，各组 49 日龄肉仔鸡肺脏未见组织学结构变化。各组肺成鲜红色，表面覆有浆膜；三级支气管上皮细胞无炎性渗出物，表面微绒毛粗细一致，分布均匀；肺房隔内淋巴细胞有形成淋巴小结；呼吸毛细管径大小均匀一致，管腔内无异物，上皮细胞表面光滑；呼吸毛细管周围毛细血管丰富。

由图 5 可见，各组 49 日龄肉仔鸡肾脏未见组织学结构变化。各组均表现为肾脏皮质部肾小球似球体，体积适中，结构正常，肾小球外有肾小囊包绕，囊腔清晰；肾小管上皮细胞结构正常，胞浆均质红染；髓质小体的集合管上皮细胞胞浆较均质。

以上结果表明，在本次试验条件下，饲粮添加 PQQ.Na_2 的各组肉仔鸡主要脏器均未观测到其显微结构和形态的组织学结构变化。

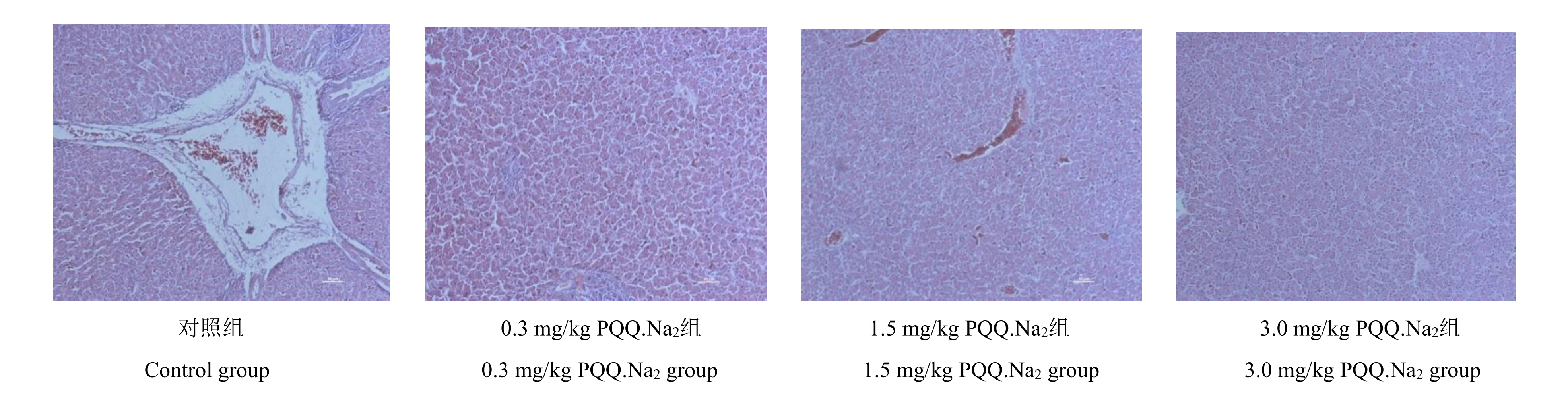


对照组 0.3 mg/kg PQQ.Na_2组 1.5 mg/kg PQQ.Na_2组 3.0 mg/kg PQQ.Na_2组

Control group 0.3 mg/kg PQQ.Na_2 group 1.5 mg/kg PQQ.Na_2 group 3.0 mg/kg PQQ.Na_2 group

图1 饲粮PQQ.Na_2添加水平对49日龄肉仔鸡心脏组织结构的影响

Fig.1 Effects of dietary PQQ.Na_2 supplemental level on heart histological structure of broilers at 49 days of age

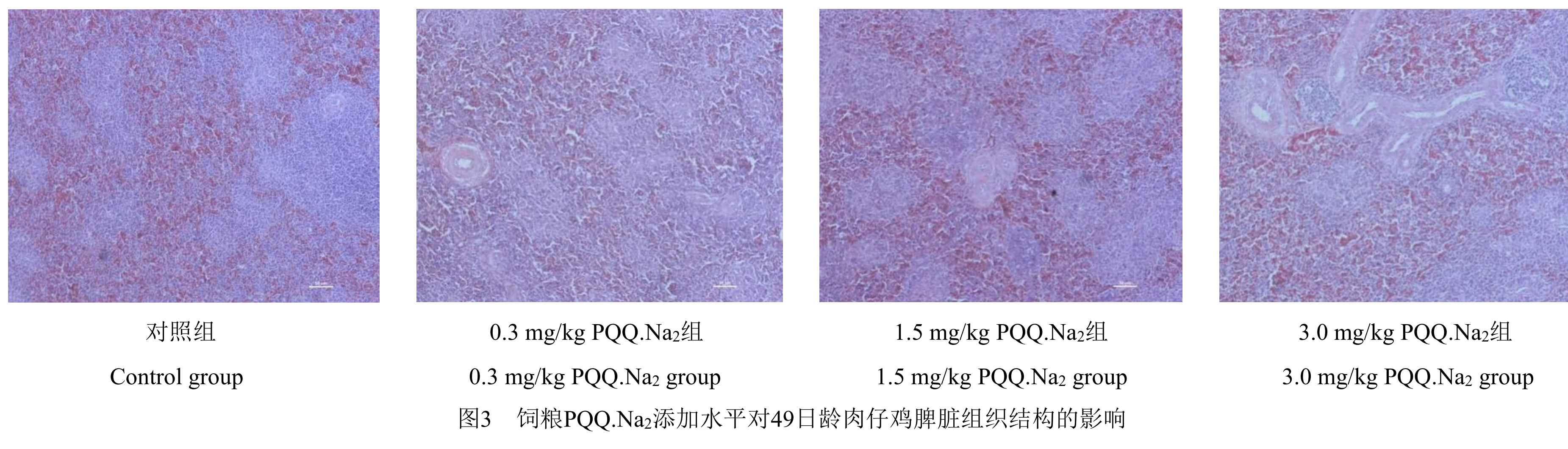


对照组 0.3 mg/kg PQQ.Na_2组 1.5 mg/kg PQQ.Na_2组 3.0 mg/kg PQQ.Na_2组

Control group 0.3 mg/kg PQQ.Na_2 group 1.5 mg/kg PQQ.Na_2 group 3.0 mg/kg PQQ.Na_2 group

图2 饲粮PQQ.Na$_2$添加水平对49日龄肉仔鸡肝脏组织结构的影响

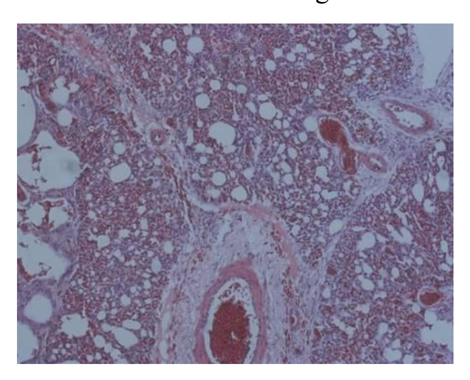
Fig.2 Effects of dietary PQQ.Na$_2$ supplemental level on liver histological structure of broilers at 49 days of age

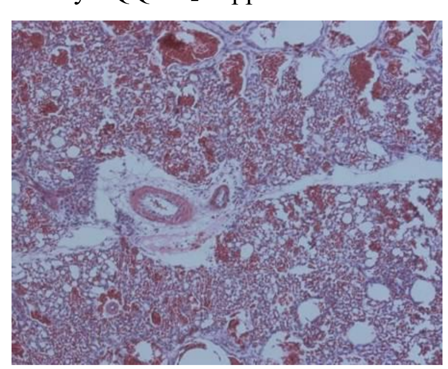


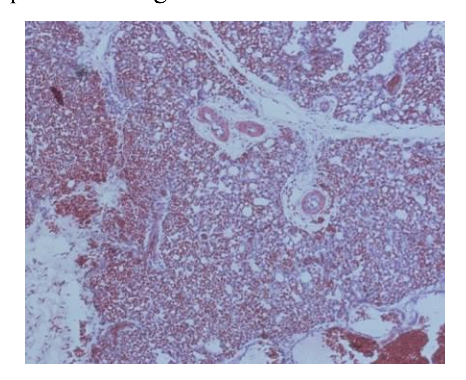
对照组	0.3 mg/kg PQQ.Na$_2$组	1.5 mg/kg PQQ.Na$_2$组	3.0 mg/kg PQQ.Na$_2$组
Control group	0.3 mg/kg PQQ.Na$_2$ group	1.5 mg/kg PQQ.Na$_2$ group	3.0 mg/kg PQQ.Na$_2$ group

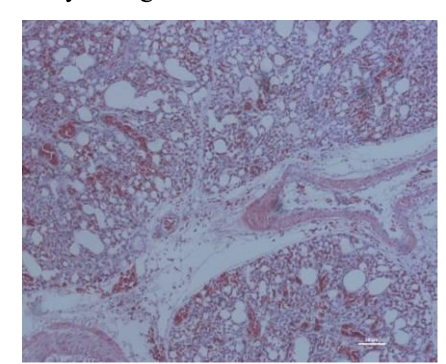
图3 饲粮PQQ.Na$_2$添加水平对49日龄肉仔鸡脾脏组织结构的影响

Fig.3 Effects of dietary PQQ.Na$_2$ supplemental level on spleen histological structure of broilers at 49 days of age









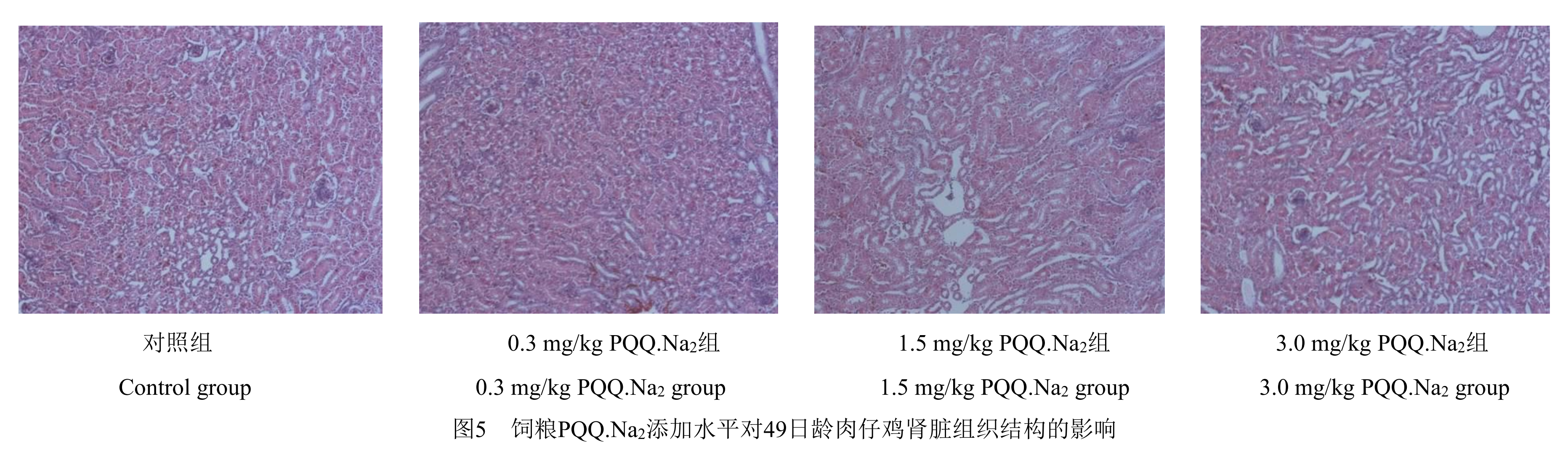


对照组　　0.3 mg/kg PQQ.Na_2组　　1.5 mg/kg PQQ.Na_2组　　3.0 mg/kg PQQ.Na_2组

Control group　　0.3 mg/kg PQQ.Na_2 group　　1.5 mg/kg PQQ.Na_2 group　　3.0 mg/kg PQQ.Na_2 group

图4　饲粮PQQ.Na_2添加水平对49日龄肉仔鸡肺脏组织结构的影响

Fig.4　Effects of dietary PQQ.Na_2 supplemental level on lung histological structure of broilers at 49 days of age



对照组　　0.3 mg/kg PQQ.Na_2组　　1.5 mg/kg PQQ.Na_2组　　3.0 mg/kg PQQ.Na_2组

Control group　　0.3 mg/kg PQQ.Na_2 group　　1.5 mg/kg PQQ.Na_2 group　　3.0 mg/kg PQQ.Na_2 group

图5　饲粮PQQ.Na_2添加水平对49日龄肉仔鸡肾脏组织结构的影响

Fig.5　Effects of dietary PQQ.Na_2 supplemental level on kidney histological structure of broilers at 49 days of age

3 讨 论

3.1 饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对肉仔鸡生长性能的影响

研究表明，PQQ 具有类维生素的作用[18]，其促生长的作用可能与增强生物体生长、发育信号转导过程中的 *RSA* 基因的表达有关[19]，是动物生长、发育和繁殖必需的营养因子。张亚男等[7]研究发现，给肉仔鸡提供氧化鸭油、新鲜鸭油和氧化鸭油加 0.4 mg/kg $PQQ.Na_2$ 的 3 种饲粮，饲粮添加 $PQQ.Na_2$ 有改善氧化鸭油组肉仔鸡生长性能的趋势，但无显著影响。Wang 等[20]在饲粮中添加 0～0.4 mg/kg $PQQ.Na_2$，结果表明饲粮添加 $PQQ.Na_2$ 对肉仔鸡前、后期及全期生长性能无显著影响。Samuel 等[21]在肉仔鸡饲粮中添加 0～0.8 mg/kg $PQQ.Na_2$，得出与 Wang 等[20]相似结果。本试验研究表明，饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对肉仔鸡的生长性能均无显著影响，与前人的研究结果相似，说明在本试验条件下，饲粮添加 $PQQ.Na_2$ 对肉仔鸡的生长无不良影响。

3.2 饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对肉仔鸡血液生理指标的影响

动物血液中血红蛋白含量和红细胞压积等血液常规指标可作为衡量机体健康状况的依据。本试验研究结果表明，饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对肉仔鸡血红蛋白含量及红细胞压积等血液指标均无显著影响。王丽云等[22]研究结果显示，设 PQQ 水平高、中、低 3 个剂量组，分别用含 3.8、7.5、15.0 mg/kg（相当于人体推荐量 300 倍）受试物给小鼠灌胃给药 90 d，结果与空白对照组没有显著差异，与本试验结果相似。这表明在本试验条件下，饲粮添加 $PQQ.Na_2$ 对肉仔鸡血液生理指标无不良影响。

3.3 饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对肉仔鸡血浆生化指标的影响

血浆总蛋白和白蛋白的含量在一定程度上可以反映机体蛋白质的合成和代谢状况。血浆中谷丙转氨酶和谷草转氨酶是反映机体肝功能的重要指标，当肝脏受到损伤时，血浆谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性会升高；血浆中肌酸激酶活性能反映出心肌细胞受损的水平；碱性磷酸酶多存在于骨骼及肝脏中，可以将相应底物去磷酸化产生磷酸，然后与钙结合沉积于

骨骼中，肝脏或成骨细胞出现损伤时，碱性磷酸酶活性会升高[23]。本试验研究结果显示，饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对血浆中谷丙转氨酶、谷草转氨酶、肌酸激酶、碱性磷酸酶活性及总蛋白、肌酐、总胆红素和葡萄糖含量等血浆生化指标均无显著影响，这与孙丽敏[9]和 Wang 等[20]研究结果相似，表明饲粮中添加 $PQQ.Na_2$ 对肉仔鸡血浆生化指标均无不良影响。

3.4 饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对 49 日龄肉仔鸡脏器指数的影响

免疫器官指数和消化器官指数是反映动物免疫和消化功能的重要参考指标。本试验研究结果表明，饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对肉仔鸡免疫器官指数和消化器官指数均无显著影响。Samuel 等[21]的研究结果也表明，饲粮 $PQQ.Na_2$ 水平不影响肉仔鸡的相关免疫器官指数（胸腺、脾脏和法氏囊）和溶菌酶活性。以上结果表明，饲粮添加 $PQQ.Na_2$ 不影响肉仔鸡主要内脏器官的发育。

3.5 饲粮 $PQQ.Na_2$ 添加水平对肉仔鸡主要脏器组织结构的影响

脏器的组织结构是反映动物机体新陈代谢的重要指标。在本试验中，肉仔鸡饲粮添加不同水平 $PQQ.Na_2$ 后，未观测到心脏等主要内脏器官组织显微结构和形态的组织结构变化。王丽云等[22]通过给小鼠灌服高、中、低（3.8、7.5、15.0 mg/kg）3 个水平的 PQQ，对照组饲喂普通饲粮，灌胃容积为 10 mL/kg 体重，发现小鼠脏器出现轻微变化，但未发现明显的组织结构病变。赵芹[24]的研究表明，用浓度为 50～400 nmol/L $PQQ.Na_2$ 处理 30 周龄海兰褐蛋鸡肝脏细胞，发现肝脏细胞存活率与正常对照组相比没有显著影响，表明 50～400 nmol/L $PQQ.Na_2$ 未能对体外培养的蛋鸡原代肝细胞产生毒性作用。这与本试验结果基本相似，表明饲粮添加 $PQQ.Na_2$ 不会引起肉仔鸡重要组织的结构变化。

本试验研究结果显示，饲粮添加 0、0.3、1.5 和 3.0 mg/kg $PQQ.Na_2$ 并未对肉仔鸡生长性能、血浆生化指标、血液生理指标、免疫器官及主要脏器发育造成不良影响，因此，建议肉仔鸡饲粮中 $PQQ.Na_2$ 的最高有效添加水平为 0.3 mg/kg，具有 10 倍的安全系数，对肉仔鸡饲喂是安全的。有研究表明，PQQ 作为一种生长因子，可激活对细胞生长、繁殖和

分化有重要作用的转录蛋白和转录因子，从而引起细胞生长、分化和存活，达到促进动物体生长的目的[25]。而本试验结果表明，饲粮添加 $PQQ.Na_2$ 对肉仔鸡的生长性能并没有产生影响，可能因为动物品种和环境的差异引起，且动物机体存在一定的耐受性，所以在本试验的添加水平下，$PQQ.Na_2$ 未能对肉仔鸡各指标产生影响。

4 结 论

饲粮中添加 0～3.0 mg/kg 的 $PQQ.Na_2$ 对肉仔鸡生长性能、血常规指标、血浆生化指标和主要脏器发育均无不良影响，主要内脏均未观测到组织病理学变化，所有鸡只均未出现毒性反应。因此，建议肉仔鸡饲粮中 $PQQ.Na_2$ 的最高有效添加水平为 0.3 mg/kg，具有 10 倍的安全系数，对肉仔鸡饲喂是安全的。

参考文献:

[1] 杨璐,熊向华,汪建华,等.吡咯喹啉醌研究进展[J].生物技术通讯,2009,20(6):874–879.

[2] ANDREA C R,ANTONIO R,AUGUTO R,et al.Modeling novel quinocofactors:an overview[J].Bioorganic Chemistry,1999,27(4):253–288.

[3] 王歆,汪建华,刘党生,等.吡咯喹啉醌产生菌筛选方法建立及菌种筛选[J].微生物学报,2007,47(6):982–986.

[4] ZHANG P,XU Y P,SUN J X,et al.Protection of pyrroloquinoline quinone against methylmercury-induced neurotoxicity via reducing oxidative stress[J].Free Radical Research,2009,43(3):224–233.

[5] TSUCHIDA T H,YASUYAMA T F,HIGUCHI K H,et al.The protective effect of pyrroloquinoline quinone and its derivatives against carbon tetrachloride-induced liver injury of rats[J].Journal of Gastroenterology & Hepatology,1993,8(4):342–347.

[6] BAUERLY K,HARRIS C,CHOWANADISAI W,et al.Altering pyrroloquinoline quinone nutritional status modulates mitochondrial,lipid,and energy metabolism in rats[J].PLoS

One,2011,6(7):e21779.

[7] 张亚男,齐博,武书庚,等.吡咯喹啉醌二钠对饲喂氧化鸭油肉仔鸡生长性能、血浆脂质代谢及抗氧化能力的影响[J].动物营养学报,2015,27(9):2884–2893.

[8] GHIRMAY S K.正常生长和地塞米松应激状态下,吡咯喹啉醌二钠盐(PQQ.Na_2)对肉仔鸡生长性能和抗氧化防御系统的影响[D].硕士学位论文.北京:中国农业科学院,2014.

[9] 孙丽敏.吡咯喹啉醌钠(PQQ.Na_2)对蛋鸡生产性能和脂质代谢的影响[D].硕士学位论文.北京:中国农业科学院,2015.

[10] NAKANO M,SUZUKI H,IMAMURA T.Genotoxicity of pyrroloquinoline quinone (PQQ) disodium salt (BioPQQ™)[J].Regulatory Toxicology and Pharmacology,2013,67(2):189–197.

[11] D'AMICO G,BAZZI C.Urinary protein and enzyme excretion as markers of tubular damage[J].Current Opinion in Nephrology and Hypertension,2003,12(6):639–643.

[12] NRC.Nutrient requirements of poultry[M].9th Ed.Washington,D.C.:National Academy Press,1994.

[13] LIU S B,XIE J J,LU L,et al.Estimation of standardized phosphorus retention for inorganic phosphate sources in broilers[J].Journal of Animal Science,2013,91(8):3766–3771.

[14] AOAC.Official methods of analysis[M].15th ed.Arlington,VA:Association of Analytical Chemists,1990:73–74.

[15] DENG W,DONG X F,TONG J M,et al.The probiotic *Bacillus licheniformis* ameliorates heat stress-induced impairment of egg production,gut morphology,and intestinal mucosal immunity in laying hens[J].Poultry Science,2012,91(3):575–82.

[16] ASHRAF S,ZANEB H,YOUSAF M S,et al.Effect of dietary supplementation of prebiotics and probiotics on intestinal microarchitecture in broilers reared under cyclic heat stress[J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2013,97(Suppl.1):68–73.

[17] SAS Institute Inc.SAS/user´s guide:statistics.Version 9.0[M].Cary,NC:SAS Institute Inc.,2003.

[18] KASAHARA T,KATO T.Nutritional biochemistry:a new redox-cofactor vitamin for mammals[J].Nature,2003,422(6934):832.

[19] KUMAZAWA T,HIWASA T,TAKIGUCHI M,et al.Activation of ras signaling pathways by pyrroloquinoline quinone in NIH3T3 mouse fibroblasts[J].International Journal of Molecular Medicine,2007,19(5):765–770.

[20] WANG J,ZHANG H J,SAMUEL K G,et al.Effects of dietary pyrroloquinoline quinone disodium on growth,carcass characteristics,redox status,and mitochondria metabolism in broilers[J].Poultry Science,2015,94(2):215–225.

[21] SAMUEL K G,ZHANG H J,WANG J,et al.Effects of dietary pyrroloquinoline quinone disodium on growth performance,carcass yield and antioxidant status of broiler chicks[J].Animal,2015,9(3):409–416.

[22] 王丽云,赵荣,施伟庆,等.吡咯喹啉醌毒理学安全性评价[J].江苏预防医学,2012,23(3):22–24.

[23] 何文刚,赵玉振,廖秀冬,等.酵母硒对肉仔鸡的生物安全性评价[J].动物营养学报,2017,29(5):1634–1644.

[24] 赵芹.吡咯喹啉醌钠(PQQ.Na_2)对蛋鸡脂肪肝的调控作用[D].硕士学位论文.北京:中国农业科学院,2014.

[25] 党晓鹏.类维生素吡咯喹啉醌研究进展[J].江西饲料,2014(4):8–10.

Evaluation of Biological Safety of Pyrroloquinoline Quinone Disodium Salt for Broilers[2]

SUN Guangming[1] DONG Xueyu[2] LIAO Xiudong[2] ZHANG Liyang[2] GUO Yanli[1*] LYU Lin[2*] LUO Xugang[2]

(1. *College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou* 730070, *China*; 2. *Mineral Nutrition Research Division, Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing* 100193, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of dietary pyrroloquinoline quinone disodium salt ($PQQ.Na_2$) supplemental level on growth performance, blood physiological parameters, plasma biochemical parameters, organ development and histopathological changes of Arbor Acres (AA) broilers, so as to evaluate the biological safety of $PQQ.Na_2$ for broilers. A total of 240 one-day-old AA broilers were randomly allocated to four groups with six replicates per group and ten broilers per replicate (half male and half female) using a completely randomized design. Birds were fed the diets supplemented with 0, 0.3, 1.5 or 3.0 mg/kg $PQQ.Na_2$ for an experimental duration of 49 days. The results indicated that dietary $PQQ.Na_2$ supplemental levels had no significant effects on the growth performance, blood physiological parameters and plasma biochemical parameters of broilers at 21 and 49 days of age, and organ indices of broilers at 49 days of age (P>0.05), as well as the histopathological changes of major organs. Therefore, the maximum of effective supplemental level of $PQQ.Na_2$ in the corn-soybean meal diet is recommended to be 0.3 mg/kg, the 10 times of appropriate $PQQ.Na_2$ supplemental level which is safe for broilers.

Key words: pyrroloquinoline quinone disodium salt; biological safety evaluation; broilers

---

*Corresponding authors: GUO Yanli, professor, E-mail: guoyl@gsau.edu.cn; LYU Lin, associate professor, E-mail: lulin1225@163.com （责任编辑　武海龙）